

## 34. クライオ透過型電子顕微鏡を用いた新たな氷高压相の構造決定

東京大学大学院理学系研究科附属地殻化学実験施設 准教授 小松 一生

### 概要

身近な氷の構造や物性にも依然として未解明の部分が数多く残されている。本研究では、エマルジョンを用いた新たな氷高压相（準安定相）の合成に成功し、それらの結晶構造解析を試みた。合成試料を液体窒素温度下で常圧回収し、クライオ透過型電子顕微鏡（クライオ電顕）による電子線回折を試みたが、電子線照射や温度変化によると思われる相転移が生じ、直接的な構造決定には至らなかった。一方で、低温高压その場粉末 X 線・中性子回折実験を併用することで、新規氷高压相の結晶構造モデルの導出に成功した。本研究で開発した低温回収技術は、他の氷高压相の研究にも応用可能であり、今後の氷研究に大きな貢献をもたらすことが期待される。

### 背景および目的

氷は、我々にとって最も身近な結晶であり、最も広くかつ深く研究された固体物質の一つと言っても過言ではないだろう。しかし、結晶固体の基本的な情報である結晶構造一つとってみても、氷については未だ全容解明とは程遠い状態にある。大気圧、0℃以下でできる通常の氷(氷 Ih と呼ぶ)の他に、別種の氷が存在することが明らかになったのは 1900 年のことである。以来、2000 年ごろまでは、新たな氷多形は 10 年に一つ程度のペースで見つかったが、今世紀に入ってからその発見のペースは急激に上がり、現在では 20 種類以上もの多形が見つかっている<sup>1)</sup>。その主な理由は、水素の位置に敏感な中性子回折法が GPa オーダーの超高压下においても測定可能になったことがあげられる。代表研究者である小松も、2021 年に氷 XIX を発見しているが、小松自身が開発した低温高压発生装置(通称 Mito system)がその技術的基盤となっている。

つい最近、我々の研究グループでは、エマルジョン（粒径 100 nm 程度の微小水滴が有機物液体中にある状態）を出発試料とし、バルク水では実現不可能な準安定状態を経由することで、新たな氷高压相（準安定相）が得られることを発見した。実験を開始して数か月という短期間ながら、これまで少なくとも 3 つの新たな氷高压相が得られている。世界的にもエマルジョンを用いた未知の氷高压相の合成に成功した例はなく、本発見が今後の氷研究にブレイクスルーをもたらすことは間違いない。しかしながら、エマルジョンを用いることはメリットばかりではない。これらの新たに発見された氷高压相の粉末回折パターンはいずれも非常に複雑であり、未だ詳細な結晶構造は明らかになっていないが、その理由は、エマルジョンを出発試料としているために大きな単結晶が得られず、初期構造モデルの決定が困難であるためである。そこで本研究では、100 nm オーダーの微小試料でも構造解析ができるクライオ透過型電子顕微鏡（以下クライオ電顕）に着目し、合成した新規氷高压相を液体窒素温度下でクライオ電顕内に導入することで、低温下での電子回折像から結晶構造を解くことを第一の目的とする。この新規氷高压相は低温高压下で結晶化するが、液体窒素温度程度の低温では、その構造を保ったまま常圧（大気圧～真空）に回収することが可能であるため、クライオ電顕での観察が可能と考えている。さらに本研究では、新規高压相の低温高压その場粉末 X 線・中性子回折パターンから、クライオ電顕で得られた初期構造モデルを精密化する。

本研究は単に構造未知の微小結晶の構造決定に挑むだけではなく、高圧氷と電顕というこれまで交わることがなかった領域の接点を創出するという点でも意義深い。本研究を通して、我々はX線・中性子線による高圧その場観察とクライオ電顕による常圧回収試料の観察を組み合わせるといった全く新しいアプローチを確立する。

## 方法

本研究では、出発物質となるエマルジョンを低温高圧環境下におくことで得られる新規高圧相を液体窒素温度下で常圧に回収し、さらに低温を保ったままクライオ電顕まで導入して観察を試みた。また、新規高圧相の粉末X線・中性子回折では、常圧に回収せずに低温高圧その場で測定した。エマルジョンは、水・油・界面活性剤を混合し、ホモジナイザーで攪拌することで生成した。

高圧その場粉末X線回折実験は専用のダイヤモンドアンビルセル(DAC)を用い、高エネルギー加速器研究機構フォトンファクトリー(KEK-PF)のBL-18Cで実施した。一方、粉末中性子回折実験はMito systemを用い、J-PARCの物質生命科学実験施設(MLF)にある高圧ビームラインPLANETで実施した。本研究において肝となるクライオ電顕観察用の試料の合成には、本助成金を用いてピストンシリンダー型高圧発生装置を新たに導入した。このピストンシリンダーは、超硬合金(炭化タングステン)製のピストンとシリンダーからなり、ピストンにかかる荷重を油圧プレスで調整することで、圧力を精度よく調整することができる装置である。高圧下で生成した試料を液体窒素温度下で回収するためのノウハウを本研究で新たに開発した。回収した新規高圧相は、理化学研究所(兵庫県佐用町)に設置されたクライオ電顕を用いて観察した。

## 結果および考察

氷高圧相をクライオ電顕で観察しようとする実験は全く新しい試みであり、その実現には多くの困難があった。本研究では、まず、得られた氷高圧相が確実に目的の相になっているかを確認する必要があったが、低温のまま試料を取り出し粉末X線回折を実施するための技術開発から実験を始めた。当初は低温下で試料と試料容器とが硬く固着してしまうという問題があったが、容器の材質やサイズの検討など細かな試行錯誤を行うことで回収試料の粉末X線回折実験に成功した。

回収試料のクライオ電顕観察のために、理研の電子顕微鏡施設に高圧装置一式を搬入し、現地で試料合成を行いながら低温下での電顕装置への試料輸送の方法を検討した。低温高圧下で合成した氷高圧相は低温下では非常に硬いが、電顕観察のためには電子線を透過させるために試料を薄くする必要がある。そのため、液体窒素中で試料を粉碎し、観察用グリッドに乗せるための試行錯誤が必要であった。また、エマルジョン試料の粒径を観察するため、クライオ走査型電子顕微鏡による観察も行い、粒径が想定通り数100nm程度であることを確認した。

新規高圧相の構造解析のための電子線回折像の取得については、結論から言えば残念ながら不成功に終わった。新規高圧相と思われる試料の電子線回折からは、積層不整を示すストリークを持つ回折像が得られ、これが氷Isdであることを確認した。すなわち、目的の氷高圧相は電顕観察時には氷Isdに変化してしまっていることが分かった。氷高圧相から氷Isdへの変化は、他の種類の高圧相でも一般に確認されている。他の高圧相の場合は、135-180K程度で氷Isdになるものが多いが、新規高圧相でもやはり135K程度で氷Isdになることが、粉末X線回折による予備実験から明らかになっている。今回の試料粉碎や輸送の過程において、このような温度上昇が起こった可能性は否定できない。また、温度上昇以外にも電子線照射によって氷Isdになった可能性もある。

本研究では、クライオ電顕による観察以外にも低温高圧その場での粉末X線回折や粉末中性子回折実験、回収した試料の低温下X線回折実験も行った。その結果、本研究で開発した低温回収技術のおかげで、極めて良質な粉末X線回折パターンの取得に成功し、未知氷試料の結晶構造モデルを導出することにも成功している。現在、詳細な構造解析の結果を投稿準備中であるため、詳しい結果は報告できないが、これまで知られているどの氷高圧相よりも大きな単位胞を持ち、極めて複雑な水素結合ネットワークを持つことが分かっている。また、本研究で開発した低温回収技術を用いて、他の氷高圧相の研究も始めており、本事業の成果は今後さらに波及・拡大することが期待される。

(完)

## 発表論文

- 1) 小松一生 (2023). 高圧力の科学と技術 33, 237-245.
- 2) Mochizuki, K., Yao, Y. & Komatsu, K. (2024). J. Phys. Chem. Lett. 15, 10734-10741.
- 3) Kobayashi, H., Komatsu, K., Ito, H., Machida, S., Hattori, T. & Kagi, H. (2023). J. Phys. Chem. Lett. 14, 10664-10669.
- 4) Komatsu, K., Hattori, T., Klotz, S., Machida, S., Yamashita, K., Ito, H., Kobayashi, H., Irifune, T., Shinmei, T., Sano-Furukawa, A. & Kagi, H. (2024). Nat. Commun. 15, 5100.

## 引用文献

- 1) Komatsu, K. (2022). Crystallography Reviews 28, 224-297.